

氏名	宮永 政光
授与した学位	博士
専攻分野の名称	工学
学位授与番号	博 甲 第 1917 号
学位授与の日付	平成11年3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Kinetic Studies on Thermolysin-Catalyzed Synthesis of Dipeptide Precursors with Immobilized and Free Enzymes in Organic Solvents (有機溶媒中での遊離及び固定化サーモライシンを触媒とす るジペプチド合成反応の速度論的研究)
論文審査委員	教授 中西 一弘 教授 山田 秀徳 教授 穴戸 昌彦

学位論文内容の要旨

有機溶媒中で酵素反応を行うと水溶液中では困難な物質の合成が可能である
 が多くの因子が複雑に関与しているために、その挙動を予測することは困難で
 ある。

本研究では、サーモライシン(EC 3.4.24.4)により触媒される、Z-L-Asp-L-
 PheOMeなどの3種類のジペプチド前駆体合成反応(縮合反応)をモデル反応
 系として取り上げ、有機溶媒中での酵素の活性と安定性に及ぼす諸因子の把握
 とその機構の解明を行うとともに合成速度の定量的予測方法を提案した。多孔
 性担体に吸着架橋した固定化酵素の反応速度と安定性は、担体内部の酵素分子
 周囲に存在する水相への基質の分配とその状態を考慮することにより、系統的
 な解釈が可能であることを示した。水相と有機相の間の基質の分配平衡を定量的
 に表現するために、両基質成分間に生じるイオン対の解離平衡とその分配を
 考慮したモデルを提案した。さらに、イオン対の形成を考慮した分配平衡関係
 と有機溶媒飽和の水溶液中での合成反応速度式、及び速度定数のpH依存性を考
 慮することにより、水/有機溶媒二相系及び固定化酵素を用いる有機溶媒中で
 の反応初速度と平衡関係を精度よく予測可能であることを示した。

一方、水難溶性有機溶媒中での固定化酵素の失活の原因は担体内酵素分子周
 囲の水相中での架橋酵素の自己消化によることを示した。さらに、失活速度
 は、温度だけではなく有機溶媒の種類、担持酵素量、担体の種類などに強く依
 存したが、この違いは水相の状態と酵素の凝集状態の違いに因ることを示し
 た。

論文審査結果の要旨

酵素反応を有機溶媒中で行うと水溶液中では困難な物質の合成が可能であるが多くの因子が複雑に関与するために、その挙動を予測することは困難である。

本研究はサーモライシン(EC3.4.24.4)により触媒される3種類の特徴的なジペプチド前駆体合成反応(縮合反応)をモデル系として取り上げ、水/有機溶媒二相系及び水難溶性有機溶媒中での酵素の活性と安定性に及ぼす諸因子の把握と機構の解明、及びその定量的予測方法の確立を目指したものである。

遊離酵素を用いる水/有機溶媒二相系における反応速度と平衡関係は、基質分子間、基質と生成物間のイオン対形成を考慮した分配平衡関係と有機溶媒飽和の水溶液中での反応速度式などを考慮することにより精度よく予測できること、さらに、固定化酵素を用いる有機溶媒中での合成反応も基本的には、二相系反応と等価と考えることにより定量的取り扱いが可能であることを示した。

一方、水難溶性有機溶媒中での固定化酵素の失活は担体内酵素分子周囲の水相中での架橋酵素の自己消化が支配的であることを示した。さらに、失活速度は、温度だけではなく有機溶媒の種類、担持酵素量、担体の種類などに強く依存したが、この違いは水相の状態と酵素の凝集状態の違いにより説明できることを示した。

以上のように本研究は、これまで定性的な解釈に留まっていた特に水難溶性の有機溶媒中での酵素反応の定量的取り扱いの基礎を確立したものであり、高く評価される。よって、本論文は博士(工学)の学位に値するものと判定する。